

**This Page Is Inserted by IFW Operations  
and is not a part of the Official Record**

## **BEST AVAILABLE IMAGES**

**Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.**

**Defects in the images may include (but are not limited to):**

- **BLACK BORDERS**
- **TEXT CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES**
- **FADED TEXT**
- **ILLEGIBLE TEXT**
- **SKEWED/SLANTED IMAGES**
- **COLORED PHOTOS**
- **BLACK OR VERY BLACK AND WHITE DARK PHOTOS**
- **GRAY SCALE DOCUMENTS**

**IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.**

**As rescanning documents *will not* correct images,  
please do not report the images to the  
Image Problem Mailbox.**



**PCT**  
WELTORGANISATION FÜR GEISTIGES EIGENTUM  
Internationales Büro  
INTERNATIONALE ANMELDUNG VERÖFFENTLICHT NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE  
INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS (PCT)

<b>(51) Internationale Patentklassifikation <sup>7</sup> :</b> <b>C08J 3/14, C08L 3/12</b>	<b>A1</b>	<b>(11) Internationale Veröffentlichungsnummer: WO 00/12590</b>  <b>(43) Internationales Veröffentlichungsdatum:</b> 9. März 2000 (09.03.00)
<b>(21) Internationales Aktenzeichen:</b> PCT/EP99/05976 <b>(22) Internationales Anmeldedatum:</b> 14. August 1999 (14.08.99)  <b>(30) Prioritätsdaten:</b> 198 39 216.8      28. August 1998 (28.08.98)      DE  <b>(71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten ausser US):</b> AVENTIS RESEARCH & TECHNOLOGIES GMBH & CO. KG [DE/DE]; D-65926 Frankfurt am Main (DE).  <b>(72) Erfinder; und</b> <b>(75) Erfinder/Anmelder (nur für US):</b> BENGES, Holger [DE/DE]; Bindingstrasse 3, D-60598 Frankfurt am Main (DE); GRANDE, Jürgen [DE/DE]; Am Hübenbusch 36, D-65812 Bad Soden (DE).		<b>(81) Bestimmungsstaaten:</b> AU, CA, CN, CZ, HU, JP, KR, NO, NZ, PL, US, ZA, europäisches Patent (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE).  <b>Veröffentlicht</b> <i>Mit internationalem Recherchenbericht.</i>
<b>(54) Title:</b> METHOD FOR THE PRODUCTION OF SPHERICAL MICROPARTICLES CONSISTING TOTALLY OR PARTLY OF AT LEAST ONE WATER-INSOLUBLE POLYGLUCAN CONTAINING BRANCHES AND MICROPARTICLES PRODUCED ACCORDING TO SAID METHOD		
<b>(54) Bezeichnung:</b> VERFAHREN ZUR HERSTELLUNG VON SPHÄRISCHEN MIKROPARTIKELN, DIE GANZ ODER TEILWEISE AUS MINDESTENS EINEM WASSERUNLÖSLICHEN VERZWEIGUNGEN ENTHALTENDEN POLYGLUCAN BESTEHEN, SOWIE MIT DIESEM VERFAHREN ERHÄLTICHE MIKROPARTIKEL		
<b>(57) Abstract</b>  The invention relates to a method for the production of spherical microparticles consisting totally or partly of at least one water-insoluble polysaccharide, wherein the at least one water-insoluble polysaccharide is dissolved in a solvent or solvent mixture, the solution thus formed is introduced into a precipitating agent or precipitating agent mixture, the mixture obtained is optionally cooled and the formed microparticles are separated. The invention is characterized in that the water-insoluble polysaccharide is selected from a polyglucan containing branches with a degree of branching higher than zero and no higher than 8 % and a mixture of a polyglucan containing branches and a linear polysaccharide, wherein the proportion of polyglucan containing branches in the mixture is at the most 30 % by weight in relation to the overall weight of the polysaccharide and the polyglucan.		
<b>(57) Zusammenfassung</b>  Die vorliegende Erfindung betrifft ein Verfahren zur Herstellung von sphärischen Mikropartikeln, die ganz oder teilweise aus mindestens einem wasserunlöslichen Polysaccharid bestehen, wobei das mindestens eine wasserunlösliche Polysaccharid in einem Lösungsmittel oder Lösungsmittelgemisch gelöst wird, die gebildete Lösung in ein Fällmittel oder Fällmittelgemisch eingebracht wird, das dabei entstehende Gemisch gegebenenfalls gekühlt wird und die gebildeten Mikropartikel abgetrennt werden, dadurch gekennzeichnet, daß das wasserunlösliche Polysaccharid ausgewählt ist unter einem Verzweigungen enthaltenden Polyglucan mit einem Verzweigungsgrad von größer Null und maximal 8 % und einer Mischung aus einem Verzweigungen enthaltenden Polyglucan und einem linearen Polysaccharid, wobei der Anteil an Verzweigungen enthaltenden Polyglucan in der Mischung maximal 30 Gew.-% bezogen auf das Gesamtgewicht des Polysaccharids und Polyglucans ist.		

# **LEDIGLICH ZUR INFORMATION**

Codes zur Identifizierung von PCT-Vertragsstaaten auf den Kopfbögen der Schriften, die internationale Anmeldungen gemäss dem PCT veröffentlichen.

AL	Albanien	ES	Spanien	LS	Lesotho	SI	Slowenien
AM	Armenien	FI	Finnland	LT	Litauen	SK	Slowakei
AT	Österreich	FR	Frankreich	LU	Luxemburg	SN	Senegal
AU	Australien	GA	Gabun	LV	Lettland	SZ	Swasiland
AZ	Aserbaidshan	GB	Vereinigtes Königreich	MC	Monaco	TD	Tschad
BA	Bosnien-Herzegowina	GE	Georgien	MD	Republik Moldau	TG	Togo
BB	Barbados	GH	Ghana	MG	Madagaskar	TJ	Tadschikistan
BE	Belgien	GN	Guinea	MK	Die ehemalige jugoslawische Republik Mazedonien	TM	Turkmenistan
BF	Burkina Faso	GR	Griechenland	ML	Mali	TR	Türkei
BG	Bulgarien	HU	Ungarn	MN	Mongolei	TT	Trinidad und Tobago
BJ	Benin	IE	Irland	MR	Mauritanien	UA	Ukraine
BR	Brasilien	IL	Israel	MW	Malawi	UG	Uganda
BY	Belarus	IS	Island	MX	Mexiko	US	Vereinigte Staaten von Amerika
CA	Kanada	IT	Italien	NE	Niger	UZ	Usbekistan
CF	Zentralafrikanische Republik	JP	Japan	NL	Niederlande	VN	Vietnam
CG	Kongo	KE	Kenia	NO	Norwegen	YU	Jugoslawien
CH	Schweiz	KG	Kirgisistan	NZ	Neuseeland	ZW	Zimbabwe
CI	Côte d'Ivoire	KP	Demokratische Volksrepublik Korea	PL	Polen		
CM	Kamerun	KR	Republik Korea	PT	Portugal		
CN	China	KZ	Kasachstan	RO	Rumänien		
CU	Kuba	LC	St. Lucia	RU	Russische Föderation		
CZ	Tschechische Republik	LI	Liechtenstein	SD	Sudan		
DE	Deutschland	LK	Sri Lanka	SE	Schweden		
DK	Dänemark	LR	Liberia	SG	Singapur		
EE	Estland						

## Beschreibung

Verfahren zur Herstellung von sphärischen Mikropartikeln, die ganz oder teilweise aus mindestens einem wasserunlöslichen Verzweigungen enthaltenden Polyglucan  
5 bestehen, sowie mit diesem Verfahren erhältliche Mikropartikel

Die vorliegende Erfindung betrifft ein Verfahren zur Herstellung von sphärischen Mikropartikeln, die ganz oder teilweise aus mindestens einem wasserunlöslichen Verzweigungen enthaltenden Polyglucan bestehen, sowie mit diesem Verfahren  
10 erhältliche Mikropartikel.

Verfahren zur Herstellung von sphärischen Mikropartikeln, die wasserunlösliche lineare Polysaccharide enthalten, sind in der prioritätsälteren nicht-  
vorveröffentlichten deutschen Patentanmeldung Nr. 19737481.6 der Anmelderin  
15 beschrieben. Mit diesem Verfahren können sphärische Mikropartikel erhalten werden, die sich insbesondere durch eine hohe Einheitlichkeit in bezug auf ihre Gestalt und Verteilung des Durchmessers sowie gute mechanische Eigenschaften auszeichnen.

Aufgrund ihrer vergleichsweise regelmäßigen Beschaffenheit bei gleichzeitig guten  
20 mechanischen Eigenschaften können diese Mikropartikel für eine Vielzahl von Anwendungen eingesetzt werden.

Als Ausgangsmaterial werden für das dort beschriebene Verfahren lineare wasserunlösliche Polysaccharide wie z.B. Polyglucane eingesetzt, die keine  
25 Verzweigungen aufweisen bzw. für die mit herkömmlichen Meßmethoden keine Verzweigungen nachgewiesen werden können. Lineare Polysaccharide bzw. Polyglucane kommen jedoch in der Natur nicht in reiner Form vor. Sie müssen daher entweder aus nativen Quellen wie z.B. Stärke mittels aufwendiger Verfahren isoliert oder hergestellt werden oder über biotechnische Verfahren gewonnen werden.

30

Insbesondere die Aufreinigung von Polysacchariden natürlichen z.B. pflanzlichen Ursprungs zu Verbindungen mit der erforderlichen hohen Linearität ist

vergleichsweise zeit- und kostenintensiv, so daß natürliche Quellen bisher nur bedingt einsetzbar sind. In Hinblick auf ihre allgemeine Verfügbarkeit und Kostengünstigkeit ist jedoch eine weite Nutzung der natürlichen Quellen wünschenswert.

5

Überraschenderweise wurde nun gefunden, daß auch bei Einsatz von Polyglucanen, die Verzweigungen enthalten, qualitativ zufriedenstellende sphärische Mikropartikel erhalten werden können, die für eine Vielzahl von Anwendungen erfolgreich eingesetzt werden können.

10

Somit betrifft die vorliegende Erfindung ein Verfahren zur Herstellung von sphärischen Mikropartikeln, die ganz oder teilweise aus mindestens einem wasserunlöslichen Polysaccharid bestehen, wobei das mindestens eine wasserunlösliche Polysaccharid in einem Lösungsmittel oder Lösungsmittelgemisch  
15 gelöst wird, die gebildete Lösung in ein Fällmittel oder Fällmittelgemisch eingebracht wird, das dabei entstehende Gemisch gegebenenfalls gekühlt wird und die gebildeten Mikropartikel abgetrennt werden, dadurch gekennzeichnet, daß das wasserunlösliche Polysaccharid ausgewählt ist unter einem Verzweigungen enthaltenden Polyglucan mit einem Verzweigungsgrad von größer Null und maximal  
20 8 % und einer Mischung aus einem Verzweigungen enthaltenden Polyglucan und einem linearen Polysaccharid, wobei der Anteil an Verzweigungen enthaltenden Polyglucan in der Mischung maximal 30 Gew.-%, bezogen auf das Gesamtgewicht des Polysaccharids und Polyglucans, ist.

25

Der erfindungsgemäße Ersatz zumindest eines Teils der linearen Ausgangsverbindungen durch Verzweigungen enthaltende Polyglucane bedeutet eine wesentliche Vereinfachung und Verbilligung des in Anmeldung Nr. 19737481.6 beschriebenen Verfahrens. Insbesondere vereinfacht das erfindungsgemäße Verfahren den Rückgriff auf natürliche Polyglucanquellen, wodurch eine billige und  
30 nachwachsende Rohstoffquelle für das vorliegende Verfahren nutzbar gemacht wird.

In diesem Sinne versteht sich die vorliegende Erfindung als vorteilhafte erfinderische

Weiterbildung der vorstehend genannten deutschen Patentanmeldung Nr. 19737481.6.

5 Für die Zwecke der vorliegende Erfindung wird der Offenbarungsgehalt der deutschen Patentanmeldung Nr. 19737381.6 vollinhaltlich miteinbezogen.

Weiter betrifft die vorliegende Anmeldung mit dem erfindungsgemäßen Verfahren erhältliche sphärische Mikropartikel.

10 Die Abbildungen 1 bis 4 zeigen rasterelektronenmikroskopische Aufnahmen (REM, Camscan S-4) von erfindungsgemäßen Mikropartikeln:

Abbildung 1: erfindungsgemäße Partikel gemäß Beispiel 1b in 5000 x Vergrößerung,  
Abbildung 2: Partikel nach Abbildung 1b in 20000 x Vergrößerung,

15 Abbildung 3: erfindungsgemäße Partikel nach Beispiel 2 in 5000 x Vergrößerung,  
Abbildung 4: erfindungsgemäße Partikel nach Abbildung 3 in 20000 x Vergrößerung,

Polyglucane setzen sich aus Glucanen als monomeren Wiederholungseinheiten zusammen, die über Glykosidbindungen miteinander verknüpft sind.

20 Linearität liegt vor, wenn jedes Monomer in dem Polymergerüst lediglich mit zwei weiteren Wiederholungseinheiten im Molekül über glykosidische Bindung verknüpft ist. Davon ausgenommen sind die beiden Wiederholungseinheiten, die den Anfang und das Ende des Polymers bilden.

25 Bei drei oder mehr Verknüpfungen pro Wiederholungseinheit wird von Verzweigung gesprochen. Dabei ergibt sich aus der Anzahl der Hydroxylgruppen pro 100 Wiederholungseinheiten, die nicht am Aufbau des linearen Polymerrückgrats beteiligt sind und Verzweigungen ausbilden, der sogenannte Verzweigungsgrad VG. Abgesehen von den beiden an der Ausbildung des linearen Polymerrückgrats  
30 beteiligten Hydroxylgruppen, besitzt jede Wiederholungseinheit im Fall von Polyglucan drei freie Hydroxylgruppen.

Für die vorliegende Beschreibung wird für den Ausdruck "Verzweigungen enthaltendes Polyglucan" synonym auch die Bezeichnung "Polyglucan mit Verzweigungen" verwendet.

- 5    Gemäß einer ersten Ausführungsform wird anstelle des linearen Polysaccharids ein Polyglucan mit Verzweigungen eingesetzt.

Das Polyglucan weist hierbei einen Verzweigungsgrad von größer 0 bis maximal 8 %, vorzugsweise maximal 5 %, auf.

10

Bevorzugte Werte für die untere Grenze des Verzweigungsgrades sind wie folgt: in 6-Position größer 0,5 % und/oder in jeder anderen Position jeweils größer 0,5 % und insbesondere größer 1 %.

- 15    Selbstverständlich können in dieser ersten Ausführungsform dem Polyglucanen mit Verzweigungen beliebige Anteile an wasserunlöslichem linearen Polysaccharid zugemischt werden.

- 20    Je höher der Anteil an linearer Struktur ist, umso gleichförmiger sind im Allgemeinen die erhaltenen Mikropartikel. Besonders gleichförmige Partikel können erhalten werden, wenn der Anteil an Verzweigungen enthaltenden Polyglucan maximal 30 Gew.-%, vorzugsweise maximal 20 Gew.-% und insbesondere maximal 10 Gew.-%, beträgt.

- 25    In einer zweiten Ausführungsform wird für das erfindungsgemäße Verfahren eine Mischung aus einem wasserunlöslichen linearen Polysaccharid und einem Verzweigungen enthaltenden Polyglucan eingesetzt, wobei der Anteil an Verzweigungen enthaltenden Polyglucan bezogen auf die Gesamtmenge an linearem Polysaccharid und Polyglucan mit Verzweigungen maximal 30 Gew.-%, vorzugsweise 20 Gew.-% und insbesondere 10 Gew.-%, beträgt.
- 30

In diesem Fall ist der Verzweigungsgrad des Polyglucans mit Verzweigungen unerheblich.

Auch hier gilt, daß im allgemeinen die Gleichförmigkeit der Partikel zunimmt, je höher der Anteil an linearer Struktur bzw. je niedriger der Verzweigungsgrad ist.

Die hier verwendeten Polyglucane können Verknüpfungen und Verzweigungen in beliebiger Position der Glucanmonomere aufweisen.

Bevorzugt sind jedoch Polyglucane, deren Polymerrückgrat über 1,4-alpha-glykosidische Verknüpfungen gebildet ist. Die Verknüpfung der Verzweigungen kann beliebig sein.

Gemäß einer bevorzugten Ausführungsform stammen die für die Erfindung verwendeten Polyglucane mit Verzweigungen von Stärke oder Stärkeanaloga ab, die vorzugsweise pflanzlichen oder tierischen Ursprungs sind.

Eine Gruppe von Stärken, die im Rahmen der Erfindung zum Einsatz gelangen können, umfaßt die aus pflanzlichen Rohstoffen gewonnenen Stärken. Hierzu zählen unter anderem Stärken aus Knollen, wie Kartoffeln, Maniok, Maranta, Batata, aus Samen wie Weizen, Mais, Roggen, Reis, Gerste, Hirse, Hafer, Sorghum, aus Früchten, wie Kastanien, Eicheln, Bohnen, Erbsen, und ähnlichen Hülsenfrüchten, Bananen, sowie aus Pflanzenmark, z.B. der Sagopalme.

Üblicherweise bestehen die aus pflanzlichen Rohstoffen gewinnbaren Stärken im wesentlichen aus Amylose, einem Poly(1,4-alpha-D-glucan), und Amylopektin, einem Poly(1,4-alpha-D-glucan) mit 1,6-Verzweigungen, in wechselnden Mengenverhältnissen.

Die erfindungsgemäß eingesetzten Polyglucane können auch aus gentechnisch oder biotechnisch veränderten Pflanzen gewonnen werden.

Beispielsweise kann durch die gentechnische oder biotechnische Modifikation die Produktion eines Polyglucans mit höherem linearen Anteil oder eine leichtere Separierung der enthaltenden Stärke bewirkt werden.



Unter Stärkeanaloga werden Verbindungen verstanden, die aus Polyglucanen bestehen, aber nicht-pflanzlichen Ursprungs sind. Ein Beispiel hierfür ist das Glykogen, ein dem Amylopektin entsprechendes Polyglucan, das tierischen Ursprungs ist, oder Dextran, das aus Bakterien gewonnen wird.

5

Es versteht sich, daß die erfindungsgemäß eingesetzten, Verzweigungen enthaltenden Polyglucane auch biotechnisch, z.B. biokatalytisch oder fermentativ, gewonnen sein können.

10 Es können auch modifizierte Polyglucane eingesetzt werden, wobei die Polyglucane beispielsweise durch Veresterung und/oder Veretherung einer nicht an der Bildung des Polymerrückgrats beteiligten Hydroxylgruppe chemisch modifiziert worden sind. Maßnahmen für derartige Modifizierungen sind dem Fachmann hinlänglich bekannt.

15 Geeignet sind auch sogenannte alpha-amylase resistente Polyglucane.

Bei Bedarf können diese Stärke und Stärkeanaloga zur Anreicherung der linearen Struktur mit einem beliebigen dafür geeigneten Verfahren aufgereinigt oder behandelt werden.

20

Geeignete Aufreinigungsverfahren umfassen z. B. Trennprozesse wie Absorptionsverfahren, Fällprozesse mit oder ohne weitere Hilfsmittel, Zentrifugation, Ausnutzen unterschiedlicher Löslichkeiten, chromatographische Verfahren etc.

25 Es können auch Entzweigungstechniken zum Einsatz kommen, wobei Verzweigungen in dem Polyglucan chemisch oder enzymatisch verringert werden.

Beispielsweise lassen sich mit Enzymen wie Amylasen, iso-Amylasen, Pullulanasen oder Gluconohydrolasen Verzweigungen vom Polymerrückgrat abspalten, so daß  
30 nach ihrer Abtrennung Polymere mit dem gewünschten geringeren Verzweigungsgrad vorliegen.

Weiter kann eine Erhöhung der Linearität dadurch erfolgen, daß enzymatisch einzelne Ketten von verzweigten Polyglucanen verlängert werden, wodurch der Verzweigungsgrad verringert wird.

- 5 Die erfindungsgemäß einsetzbaren linearen Polysaccharide können beliebigen Ursprungs sein. Sie können aus natürlichen Quellen, die gegebenenfalls gentechnisch oder biotechnisch modifiziert sein können, oder über biotechnische Verfahren gewonnen sein. Eine sehr vorteilhafte Methode für die biotechnische Gewinnung ist beispielsweise in der WO 95/31 553 beschrieben, auf die hier  
10 ausdrücklich bezug genommen wird.

Sie können, wie vorstehend für die verzweigten Polyglucane beschrieben, chemisch modifiziert sein.

- Es können auch alpha-amylase resistente lineare Polysaccharide eingesetzt werden,  
15 wie sie z.B. in der prioritätsälteren nicht-vorveröffentlichten deutschen Patentanmeldung Nr. 198 30 618.0, auf die hier ebenfalls ausdrücklich bezug genommen wird.

- Insbesondere können dieselben linearen Polysaccharide eingesetzt werden wie sie  
20 in der deutschen Anmeldung Nr. 19737481.6 beschrieben sind.

- Bevorzugte Beispiele sind lineare Polyglucane wie Poly(1,4-alpha-D-glucan) und Poly(1,3-beta-D-glucan), wobei Poly(1,4-alpha-D-glucan), insbesondere biotechnisch gewonnen, besonders bevorzugt ist.

- 25 Im folgenden wird soweit auf die wasserunlöslichen Polyglucane mit Verzweigungen und die wasserunlöslichen linearen Polysaccharide gemeinsam bezug genommen wird, der Ausdruck "Polyglucan/saccharid" verwendet.

- 30 Unter dem Begriff "wasserunlösliche Polyglucane/saccharide" werden für die vorliegende Erfindung Verbindungen verstanden, die nach der Definition des Deutschen Arzneimittelbuches (DAB = Deutsches Arzneimittelbuch,

Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH, Stuttgart, Govi-Verlag GmbH, Frankfurt, 9. Auflage, 1987) entsprechend den Klassen 4 bis 7 unter die Kategorien "wenig löslich", "schwer lösliche", "sehr schwer lösliche" bzw. "praktisch unlösliche" Verbindungen fallen.

5

Für die vorliegende Erfindung sind schwer lösliche bis praktisch unlösliche Verbindungen, insbesondere sehr schwer lösliche bis praktisch unlösliche Verbindungen, bevorzugt.

10 im Fall der erfindungsgemäß verwendeten Polyglucane/saccharide bedeutet dies, daß vorzugsweise mindestens 98 % der eingesetzten Menge, insbesondere mindestens 99,5 %, unter Normalbedingungen (  $T = 25\text{ °C} \pm 20\%$ ,  $p = 101325\text{ Pascal} \pm 20\%$ ) in Wasser unlöslich ist ( entsprechend den Klassen 4 bzw. 5).

15 "Sehr schwer löslich" entsprechend Klasse 6 kann durch folgende Versuchsbeschreibung veranschaulicht werden:

Ein Gramm des zu untersuchenden Polyglucans/saccharids werden in 1 l entionisierten Wasser auf  $130\text{ °C}$  unter einem Druck von 1 bar erhitzt. Die entstehende Lösung bleibt nur kurzzeitig über wenige Minuten stabil. Beim Erkalten  
20 unter Normalbedingungen fällt die Substanz wieder aus. Nach Abkühlung auf Raumtemperatur und Abtrennung mittels Zentrifugieren können unter Berücksichtigung der experimentellen Verluste mindestens 66 % der eingesetzten Menge zurückgewonnen werden.

25 Die Molekulargewichte  $M_w$  (Gewichtsmittel, bestimmt mittels Gelpermeationschromatographie im Vergleich zu einer Eichung mit Pullulanstandard) der erfindungsgemäß verwendeten Polyglucane/saccharide können in einem weiten Bereich von  $10^3\text{ g/mol}$  bis  $10^7\text{ g/mol}$  variieren. Bevorzugt liegt das Molekulargewicht  $M_w$  in einem Bereich von  $10^4\text{ g/mol}$  bis  $10^5\text{ g/mol}$  und  
30 besonders bevorzugt von  $2 \times 10^4\text{ g/mol}$  bis  $5 \times 10^4\text{ g/mol}$ . Ein weiterer vorteilhafter Bereich ist von  $2 \times 10^3$  bis  $8 \times 10^3$ .

Es hat sich gezeigt, daß die Molekulargewichte für das Verzweigungen enthaltende Polyglucan auch höher liegen kann.

Die Molekulargewichtsverteilung bzw. Polydispersität  $M_w/M_n$  kann ebenfalls in weiten  
5 Bereichen je nach Ursprung und Herstellungsverfahren des Polyglucans/saccharids variieren. Bevorzugte Werte sind von 1,01 bis 50, insbesondere von 1,5 bis 15. Dabei nimmt die Polydispersität mit einer bimodalen Verteilung der Molekulargewichte zu.

10 Wie bereits erwähnt, können erfindungsgemäß den Polyglucanen mit Verzweigungen wasserunlösliche lineare Polysaccharide, vorzugsweise wasserunlösliche lineare Polyglucane, beigemischt werden.

Es können auch andere Polymere, insbesondere andere biokompatible oder  
15 bioabbaubare Polymere, zugesetzt werden. Dabei hängt die Menge des oder der anderen Polymeren, die zugesetzt werden, ohne daß die sphärische Gestalt und/oder sonstige Eigenschaften der herzustellenden Mikropartikel verändert werden, stets von dem zugesetzten Polymer ab. Sie kann bis zu 10 % oder mehr betragen, bezogen auf den Anteil Polyglucan mit Verzweigungen und ggf. lineares  
20 Polysaccharid, in bestimmten Fällen auch weniger. Die zulässige maximale Menge hängt von dem jeweiligen Einzelfall ab und kann von einem Fachmann leicht durch Routineversuche bestimmt werden.

Zur Herstellung der erfindungsgemäßen Mikropartikel werden die  
25 Ausgangssubstanzen, wie das Polyglucan mit Verzweigungen und ggf. lineare Polysaccharid etc., in einem Lösungsmittel gelöst. Beispiele für geeignete Lösungsmittel sind Dimethylsulfoxid (DMSO), Formamid, Acetamid, N,N-Dimethylformamid, N,N-Dimethylacetamid, N-Methylmorpholin-N-oxid in Gegenwart von Wasser, weitere N-substituierte Morpholin-N-oxide, wäßrige Lösungen mit  
30 hohem oder niedrigem pH-Wert oder Mischungen aus den vorstehend genannten Lösungsmitteln, wobei DMSO besonders bevorzugt ist. Selbstverständlich können auch andere, dem Fachmann für diesen Zweck geläufige Lösungsmittel verwendet

werden.

Die Gesamtkonzentration (Konzentration Polyglucan mit Verzweigungen plus ggf. Konzentration an linearem Polysaccharid) in dem Lösungsmittel kann je nach Bedarf  
5 in weiten Grenzen variieren. Vorzugsweise liegt sie in einem Bereich von 0,02 g (Polyglucan mit Verzweigungen+ Polysaccharid)/ml (Lösungsmittel) bis 1,0 g/ml, insbesondere von 0,05 g/ml bis 0,8 g/ml und besonders bevorzugt von 0,3 g/l bis 0,6 g/l.

10 Beispiele für Fällmittel sind Wasser, Dichlormethan, ein Gemisch aus Wasser und Dichlormethan, Gemische aus Wasser und Alkoholen wie Methanol, Ethanol, Isopropanol, wobei Wasser sowie ein Gemisch aus Wasser und Dichlormethan besonders bevorzugt sind.

15 Vorzugsweise wird das Verhältnis Lösungsmittel zu Fällmittel in einem Bereich von 1 : 1000 bis 1 : 4 (Teil Lösungsmittel / Teile Fällmittel), vorzugsweise 1 : 100 bis 1 : 10 und insbesondere 1 : 70 bis 1 : 30 ausgewählt.

Gemäß einer bevorzugten Ausführungsform werden die die Ausgangssubstanzen  
20 enthaltene Lösung und das Fällmittel bei einer Temperatur zwischen 20 °C und 50 °C zusammengebracht.

Erfolgt das Zusammenmischen bei erhöhter Temperatur, kann das entstehende Gemisch anschließend bei Bedarf gekühlt werden.

25

Dabei ist es unerheblich, in welcher Reihenfolge das Lösungsmittel und das Fällmittel zusammengebracht werden, z.B. ob das Fällmittel zum Lösungsmittel oder umgekehrt gegeben wird.

Wichtig ist jedoch, daß eine schnelle Durchmischung gewährleistet wird.

30

Die Temperatur während des Fällprozesses wird im allgemeinen bei einem Wert von plus 10 °C bis minus 10 °C, vorzugsweise plus 5 °C und minus 5 °C, gehalten. Bei

Bedarf kann sie auch höher oder niedriger gewählt werden.

Der Fällprozeß kann relativ langsam bei tiefer Temperatur über Nacht durchgeführt werden.

- 5 Er kann durch Variation der Temperatur und des Fällmittels beeinflusst und gesteuert werden.

Weiter können die Prozeßführung sowie die Eigenschaften der Mikropartikel, wie Größe etc. durch Zusatz von Fällungshilfsmitteln beeinflusst werden.

10

Falls gekühlt wird, muß sichergestellt sein, daß das Gemisch aus Lösungsmittel und Fällmittel liquide bleibt und nicht erstarrt.

Geeignete Fällungshilfsmittel sind z.B. oberflächenaktive Stoffe wie

- 15 Natriumdodecylsulfat, N-Methylgluconamid, Polysorbate (z.B. Tween (eingetragene Marke)), Alkylpolyglycolether, Ethylenoxid-Propylenoxid-Blockpolymere (z.B. Pluronic (eingetragene Marke)), Alkylpolyglycolethersulfate, generell Alkylsulfate und Fettsäureglycolester, Zucker wie z.B. Fructose, Saccharose, Glucose und wasserlösliche Cellulosederivate.

20

Die oberflächenaktiven Stoffe können anionischer, kationischer oder nicht-ionischer Natur sein.

Prinzipiell kann jedes wasserlösliche Cellulosederivat verwendet werden, sofern es

- 25 als Fällungshilfsmittel geeignet ist.

Es kann sich hierbei um chemisch modifizierte Cellulosen jedweder Art handeln.

Beispiele sind Celluloseester und Celluloseether und deren Mischformen. Konkrete Vertreter sind z.B. Hydroxypropylmethylcellulosen, Hydroxyethylcellulosen, Carboxymethylcellulosen, Celluloseacetate, Cellulosebutyrate, Cellulosepropionate, Celluloseacetobutyrate, Celluloseacetopropionate, Cellulosenitrate, Ethylcellulosen, Benzylcellulosen, Methylcellulosen etc..

30

Es können auch Mischungen von verschiedenen wasserlöslichen Cellulosederivaten eingesetzt werden.

Unter dem Begriff "wasserlösliche Cellulosederivate" werden für die vorliegende  
5 Erfindung Verbindungen verstanden, die nach der Definition des Deutschen  
Arzneimittelbuches (DAB = Deutsches Arzneimittelbuch, Wissenschaftliche  
Verlagsgesellschaft mbH, Stuttgart, Govi-Verlag GmbH, Frankfurt, 9. Auflage, 1987)  
unter die Kategorie sehr leicht löslich bis schwer löslich fallen.

10 Üblicherweise werden die Hilfsmittel dem Fällmittel zugesetzt. Die verwendete  
Menge hängt von dem jeweiligen Einzelfall sowie den erwünschten  
Partikeleigenschaften ab, wobei die Bestimmung der jeweils vorteilhaften Menge  
dem Fachmann geläufig ist.

15 Als vorteilhaft haben sich Konzentrationen von 2 g (Hilfsmittel)/l (Fällmittel) bis 150  
g/l, vorzugsweise von 5 g/l bis 80 g/l und insbesondere 8 g/l bis 20 g/l, erwiesen.  
Dies gilt insbesondere auch für das wasserlösliche Cellulosederivat.

Interessanterweise hat sich gezeigt, daß der Anteil an besonders kleinen Partikeln  
20 gesteigert werden kann, wenn dem Fällmittel heißwasserlösliches Poly-alpha-D-  
glucan zugesetzt wird.

Es können hierfür dieselben Poly-alpha-D-glucanverbindungen eingesetzt werden  
wie sie im Zusammenhang mit den Polyglucanen mit Verzweigungen bzw. den  
25 linearen Polysacchariden genannt worden sind.

Bevorzugte Beispiele sind native oder chemisch modifizierte Stärken, aus diesen  
Stärken gewonnene Poly-alpha-D-glucane sowie stärkeanaloge Verbindungen.

30 Unter stärkeanaloge Verbindungen werden Verbindungen verstanden, die aus Poly-  
alpha-D-glucanen bestehen, aber nicht-pflanzlichen Ursprungs sind. Ein Beispiel  
hierfür ist Glykogen oder Dextran.

Die heißwasserlöslichen Poly-alpha-D-glucane können als Mischung aus einem linearen und einem verzweigten Anteil eingesetzt werden, wie sie z.B. in Stärke vorliegt. In diesem Fall sollte der Anteil an linearem Poly-alpha-D-glucan mehr als 15 Gew.-%, vorzugsweise 50 bis 99,5 Gew.-%, insbesondere 60 bis 90 Gew.-% und  
5 ganz besonders bevorzugt 65 bis 80 Gew.-%, bezogen auf die Gesamtmenge Poly-alpha-D-glucan im Fällmittel, betragen.

Sie können aber auch aus verzweigten Strukturen bestehen, wie sie z.B. im Amylopektin oder im Glykogen vorliegen.

10

Im Rahmen der vorliegenden Erfindung bedeutet "heißwasserlöslich", daß die Poly-alpha-D-glucane bei Raumtemperatur im wesentlichen unlöslich sind, wobei vorzugsweise der gleiche Maßstab wie für den Begriff "wasserunlöslich" in Zusammenhang mit den verzweigten Polyglucanen bzw. linearen Polysacchariden  
15 gilt.

Unter dem Begriff "Lösung" bzw. "Löslichkeit" werden insbesondere auch Suspensionen bzw. die Ausbildung von Suspensionen verstanden wie sie bei der Lösung von Stärke auftreten.

20 Beispielsweise zeigen die erfindungsgemäß bevorzugten heißwasserlöslichen Stärken bei Raumtemperatur so gut wie keine Löslichkeit in Wasser, während die sogenannten kaltwasserlöslichen Stärken unter diesen Bedingungen leichter löslich sind.

25 Die heißwasserlöslichen Stärken sind insbesondere dadurch charakterisiert, daß sie bei Erhitzen unter Eigendruck, z.B. in einem Autoklaven, auf eine Temperatur im Bereich von etwa 100 bis etwa 160 °C Lösungen bilden, wobei die jeweilige Temperatur von der Art der Stärke abhängt.

30 Beispielsweise kann Kartoffelstärke bei ca. 100 °C bis zur völligen Auflösung gekocht werden, während Maisstärke eine Temperatur von ca. 125 °C erfordert.



Für das erfindungsgemäße Verfahren werden die heißwasserlöslichen Poly-alpha-D-glucane dem Fällmittel vorzugsweise in maximaler Konzentration zugesetzt, d.h. es wird eine gesättigte Lösung hergestellt.

- 5 Weitere geeignete Bereiche sind von mehr als 0,001 Gew.-% bis 10 Gew.-%, bevorzugt von 0,01 bis 2 Gew.-% und insbesondere von 0,05 Gew.-% bis 0,5 Gew.-%, bezogen auf die eingesetzte Menge an Fällmittel.

- Aufgrund ihrer Naturidentität sind die meisten der erfindungsgemäß eingesetzten  
10 wasserunlöslichen Verzweigungen enthaltenden Polyglucane und ggf. wasserunlöslichen linearen Polysaccharide sowie deren Abbauprodukte biokompatibel und biologisch abbaubar. Sie besitzen eine hohe Gewebeverträglichkeit und reichern sich nicht in einem tierischen, insbesondere menschlichen, Organismus an.
- 15 Unter biologischem Abbau wird dabei jedweder in vivo ablaufende Vorgang verstanden, der zu einem Abbau oder einer Zerstörung der Substanzen, hier der wasserunlöslichen Polyglucane/Polysaccharide führt.

- Diese Eigenschaften der Biokompatibilität und der biologischen Abbaubarkeit sind  
20 insbesondere für Verwendungen vorteilhaft, die einen menschlichen oder tierischen Organismus betreffen, z. B. in der Medizin, Pharmazie oder Kosmetik.

- Die nach dem erfindungsgemäßen Verfahren erhältlichen sphärischen Mikropartikel, die ebenfalls Gegenstand dieser Erfindung sind, weisen ebenso wie die in der  
25 deutschen Patentanmeldung Nr. 19737481.6 beschriebenen Mikropartikel eine regelmäßige sphärische Gestalt, enge Größenverteilung und gute mechanische Eigenschaften auf.

- Die Partikel können mittlere Durchmesser (Zahlenmittelwert) aufweisen von 1 nm bis  
30 100 µm, bevorzugt 100 nm bis 10 µm und besonders bevorzugt 1 µm bis 5 µm.

Sphärisch im Sinne der Erfindung bedeutet, daß die Mikropartikel annähernd

Kugelform besitzen. Bei Beschreibung einer Kugel durch von einem gemeinsamen Ursprung ausgehende, in den Raum gerichtete Achsen gleicher Länge, die den Radius der Kugel in allen Raumrichtungen definieren, ist für die sphärischen Mikropartikel eine Abweichung der der Achsenlängen vom Idealzustand der Kugel  
5 von 1 % bis 40 % möglich. Bevorzugt werden sphärische Mikropartikel mit Abweichungen bis 25 %, besonders bevorzugt bis 15 % erhalten.

Die Oberfläche der sphärischen Mikropartikel kann makroskopisch mit einer Himbeere verglichen werden, wobei die Tiefe von Unregelmäßigkeiten auf der  
10 Partikeloberfläche, wie Eindellungen oder Einschnitte, maximal 20 % des mittleren Durchmessers der sphärischen Mikropartikel beträgt.

Weiter zeigen die erfindungsgemäßen Mikropartikel vorzugsweise eine Dispersität  $D = \text{Gewichtsmittelwert des Durchmessers } (d_w) / \text{Zahlenmittelwert des}$   
15  $\text{Durchmessers } (d_n)$  von 1,0 bis 10,0, vorzugsweise von 1,5 bis 8,0 und insbesondere von 2,0 bis 4,0.

Die hier benutzten Mittelwerte sind wie folgt definiert:

20  $d_n = \text{Summe } n_i \times d_i / \text{Summe } n_i = \text{Zahlenmittelwert}$   
 $d_w = \text{Summe } n_i \times d_i^2 / \text{Summe } n_i \times d_i = \text{Gewichtsmittelwert}$   
 $n_i = \text{Anzahl der Partikel mit Durchmesser } d_i,$   
 $d_i = \text{ein bestimmter Durchmesser,}$   
 $i = \text{fortlaufender Parameter.}$

25

In diesem Zusammenhang bedeutet der Begriff Gewicht ein gewichtetes Mittel, wobei die größeren Durchmesser einen höheren Stellenwert erhalten.

Es versteht sich, daß die mit dem erfindungsgemäßen Verfahren erhältlichen  
30 Mikropartikel für alle Anwendungen wie sie in den prioritätsälteren nicht-  
vorveröffentlichten deutschen Patentanmeldungen Nrn. 19737481.6, 19803415.6,  
19816070.4 oder 19816085.2 aufgeführt sind, geeignet sind.

So können sie in reiner Form oder als Wirkstoffträger auch im weitestem Sinne eingesetzt werden, beispielsweise

- als Additive in der Kosmetik für Salben, Puder, Cremes, Pasten etc.
- als Träger für Wirksubstanzen in pharmazeutischen, tiermedizinischen und  
5 anderen ,
- als Glättungsmittel z.B. zum Verschließen von Poren oder Glätten von Graten,
- als Lebensmittelzusatzstoff, z.B. als Füllkomponente oder zum Verbessern von rheologischen Eigenschaften,
- als Additiv zur Veredlung von z.B. Emulsionspolymerisaten,
- 10 - als Trennhilfen, z.B. für die Abtrennung von Verunreinigungen,
- als Verkapselungsmaterial,
- als Träger für magnetische Partikel etc.,
- als Füllmittel für insbesondere bioabbaubare Polymere oder technische Polymere z.B. zur Eigenschaftskontrolle,
- 15 - als Additiv zur Eigenschaftskontrolle, z.B. der Porosität, des Gewichts, der Farbe etc.,
- als Partikelstandard zur Eichung oder Bestimmung der Partikelgröße unbekannter Materialien etc.,
- als Trägermaterial zur kontrollierten, z.B. retardierten Wirkstoffabgabe,
- 20 - als Füllstoff zur Eigenschaftsverbesserung von technischen oder biokompatiblen Polymeren, und
- in diagnostischen Tests, z. B. als Ultraschallmittel.

Im folgenden wird die Erfindung anhand von Beispielen näher erläutert. Diese  
25 Beispiele dienen der Veranschaulichung und haben keine limitierende Bedeutung.

#### Beispiel 1

Herstellung von Mikropartikeln mit einer amyloseangereicherten Stärke

- 30 a. Anreicherung des linearen Anteils (Amyloseanreicherung):  
30 g Stärke (Hylon VII, Marke der Fa. National Starch) wurden in 500 ml Dimethylsulfoxid (DMSO, Riedel de Haen) 24 Stunden (h) bei

Raumtemperatur gerührt. Es bildete sich eine trübe Mischung. Es wurde 20 min. bei 4000 Umdrehungen/Minute (U/min.) abzentrifugiert (Labofuge GL der Fa. Heraeus). Die erhaltene Lösung wurde in 1 l 1-Butanol gefällt und etwa 1 h stengelassen. Anschließend wurde filtriert. Der Filterkuchen wurde in 3 l kochendem Wasser gelöst. Es wurde auf 60 °C gekühlt und 3 g Thymol (Fa. Fluka) zugegeben. Der Ansatz wurde 3 Tage stengelassen. Danach wurde er für 45 min. aufgekocht. Nach dem Abkühlen wurde anschließend 1 l 1-Butanol dazugegeben und über Nacht ausgefällt. Es wurde 20 min. bei 4000 U/min. zentrifugiert. Der erhaltene Rückstand wurde gefriergetrocknet (Gefriertrocknung der Fa. Christ).  
Ausbeute: 11,7 g (39 %).

b. Verwendung der amyloseangereicherten Stärke zur Herstellung von Mikropartikeln:

1,0 g der vorstehend erhaltenen amyloseangereicherten Stärke wurde in 5 ml DMSO (Riedel de Haen) bei 60 °C innerhalb weniger Minuten gelöst. Die Lösung wurde unter Rühren innerhalb weniger Sekunden in 100 ml Wasser eingetropft. Der erhaltene Ansatz wurde 16 h bei 5 °C stengelassen. Es bildete sich ein feiner weißer Niederschlag in einer milchigen Suspension aus. Der Niederschlag, der die Partikel enthielt, wurde abgetrennt, indem der gesamte Ansatz homogen suspendiert und anschließend 10 min bei 3000 U/min. zentrifugiert wurde (Labofuge GL der Fa. Heraeus). Der erhaltene feste Rückstand wurde insgesamt dreimal mit bidestilliertem Wasser aufgeschlämmt und unter den gleichen Bedingungen wie zuvor zentrifugiert. Anschließend wurde der erhaltene Feststoff in knapp 10 ml bidestilliertem Wasser aufgeschlämmt, eingefroren und lyophilisiert (Gefriertrocknung: Christ Delta 1-24 KD).

Zur Charakterisierung der Partikel wurden

Rasterelektronenmikroskopaufnahmen angefertigt (REM, Camscan S-4), die in Abbildungen 1 und 2 gezeigt sind.

Anhand der Aufnahmen konnte der Anteil an Partikeln auf etwa 30 % geschätzt werden.

- c. Nach Wiederholung des unter a. beschriebenen Anreicherungsverfahrens erhöhte sich der Partikelanteil auf etwa 55 %, nach einer dritten Wiederholung auf etwa 70 %.

5 **Beispiel 2**

Herstellung unter Verwendung einer Mischung aus verzweigtem und linearem Poly(1,4-alpha-D-glucan):

Der Fällungsprozeß wurde im wesentlichen wie unter Beispiel 1b beschrieben  
10 durchgeführt.

Als Ausgangssubstanz wurde eine Mischung aus 98 mg Poly(1,4-alpha-D-glucan) (98 %) und 2 mg Glykogen (2 %) aus Austern (Fa. Fluka) verwendet.

Ausbeute 65,9 mg (60 %).

Aus REM-Aufnahmen ergibt sich ein Anteil an Partikeln von mehr als 95 %  
15 (Abbildungen 4 und 5).

**Beispiel 3**

Herstellung unter Verwendung einer Mischung aus verzweigtem und linearem Poly(1,4-alpha-D-glucan):

20

Der Fällungsprozeß wurde im wesentlichen wie unter Beispiel 1b beschrieben durchgeführt.

Als Ausgangssubstanz wurde eine Mischung aus 90 mg Poly(1,4-alpha-D-glucan) (90 %) und 10 mg Amylopektin (10 %) (Amioca Powder der Fa. National Starch)

25 verwendet.

Aus den REM-Aufnahmen ergibt sich ein Anteil an Partikeln von mehr als 85 %.

**Beispiel 4**

- a. Enzymatische Entzweigung von Amylopektin zur Anreicherung der linearen  
30 Strukturen.

In einem 4-Hals-Rührer mit Rückflußkühler (Polymerapparatur) wurden 200

ml entionisiertes Wasser vorgelegt. Dazu wurden 50 g Amylopektin (Amioca Powder TFL der Fa. National Starch) gegeben. Es wurde unter Rühren auf 125 °C erhitzt und der Ansatz 1h bei dieser Temperatur gehalten, wobei die Viskosität zunahm. Anschließend wurde im Autoklaven unter Eigendruck 30 min. auf 130 °C erhitzt, wobei eine klare, homogen wirkende, dickflüssige Lösung erhalten wurde.

Es wurde auf 58 °C abgekühlt und 60 mg Pullulanase aus *Bacillus* sp. (1,62 U/mg) (Fa. Fluka), die vorher in 1ml entionisiertem Wasser gelöst worden waren, dazugegeben. Der die Pullulanase enthaltende Ansatz wurde 12 h bei 58 °C gerührt, wobei die Masse dünnflüssig wurde. Danach wurde auf Raumtemperatur abgekühlt, wobei die Lösung eine weißliche Färbung annahm.

Nach 6 h Stunden wurde eine Probe (Probe 1) entnommen und aufgearbeitet. Der verbleibende Rückstand wurde nach 12 h abgetrennt und gefriergetrocknet (Probe 2).

Ausbeute: 48,5 g.

- b. Verwendung des unter a. erhaltenen enzymatisch aufgearbeiteten Amylopektins zur Herstellung von Mikropartikeln

Es wurde im wesentlichen das gleiche Verfahren wie in Beispiel 1b. angewandt.

Im Ergebnis zeigte sich, daß mit Zunahme der linearen Strukturen der Anteil an ausgebildeten Partikeln zunimmt:

Probe 1: etwa 50 % Partikel

Probe 2: etwa 80 % Partikel.

#### Beispiel 5

Bestimmung der Löslichkeit von Polysacchariden und Klassifizierung nach dem Deutschen Arzneimittelbuch (DAB)

564 mg Poly(1,4- $\alpha$ -D-glucan) wurden in etwa 0,5 l bidestillierten Wasser bei 1,3

bar und 130 °C 1,5 Stunden in einem Autoklaven (Apparat Certoclav) erhitzt. Vorher war das Gewicht des Autoklaven bestimmt worden.

Anschließend wurde die Apparatur entspannt und bei Raumtemperatur abgekühlt.

Der Inhalt wurde gewogen. Er entsprach 501,74 g.

- 5 Nach weiteren 24 Stunden wurde zentrifugiert und dekantiert. Der erhaltene feste Rückstand wurde getrocknet und ausgewogen. Es wurden 468 mg erhalten, woraus sich ein gelöster Anteil von 96 mg errechnet.

Bezogen auf die eingesetzte Menge an Lösungsmittel folgt daraus, daß zur Lösung  
10 von 1 mg Poly(1,4-alpha-D-glucan)) 5226 mg Wasser erforderlich sind. Nach der Klassifizierung gemäß DAB fällt diese Substanz somit unter die Klasse "sehr schwer löslich". Gemäß DAB fallen unter diese Klasse alle Substanzen, für die zwischen 1.000 und 10.000

Teile Lösungsmittel erforderlich sind, um 1 Teil der Substanz in Lösung zu bringen.

15

Dies ist von den 7 Klassen, in die die Löslichkeit gemäß DAB eingeteilt wird, die Klasse 6, wobei die Einteilung von der Klasse 1 "sehr leicht löslich" bis Klasse 7 "praktisch unlöslich" reicht.

## Patentansprüche

1. Verfahren zur Herstellung von sphärischen Mikropartikeln, die ganz oder teilweise aus mindestens einem wasserunlöslichen Polysaccharid bestehen,  
5 wobei das mindestens eine wasserunlösliche Polysaccharid in einem Lösungsmittel oder Lösungsmittelgemisch gelöst wird, die gebildete Lösung in ein Fällmittel oder Fällmittelgemisch eingebracht wird, das dabei entstehende Gemisch gegebenenfalls gekühlt wird und die gebildeten Mikropartikel abgetrennt werden, dadurch gekennzeichnet, daß das wasserunlösliche  
10 Polysaccharid ausgewählt ist unter einem Verzweigungen enthaltenden Polyglucan mit einem Verzweigungsgrad von größer Null und maximal 8 % und einer Mischung aus einem Verzweigungen enthaltenden Polyglucan und einem linearen Polysaccharid, wobei der Anteil an Verzweigungen enthaltenden Polyglucane in der Mischung maximal 30 Gew.-% bezogen auf  
15 das Gesamtgewicht des Polysaccharids und Polyglucans ist.
2. Verfahren nach Anspruch 1, wobei das wasserunlösliche Polysaccharid eine Mischung aus einem Verzweigungen enthaltenden Polyglucan mit einem Verzweigungsgrad von größer Null und maximal 8 % und einem linearen  
20 Polysaccharid ist.
3. Verfahren nach Anspruch 1 oder 2, wobei das Verzweigungen enthaltende Polyglucan aus einer pflanzlichen Quelle stammt.
- 25 4. Verfahren nach Anspruch 3, wobei die pflanzliche Quelle Stärke ist.
5. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 oder 2, wobei das Verzweigungen enthaltende Polyglucan aus einer tierischen Quelle stammt.
- 30 6. Verfahren nach Anspruch 5, wobei die tierische Quelle Glykogen ist.
7. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei das



Polymergerüst des Verzweigungen enthaltenden Polyglucans aus D-Glucanmonomeren über 1,4-alpha-glykosidische Verknüpfungen aufgebaut ist.

- 5 8. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei das Verzweigungen enthaltende Polyglucan chemisch modifiziert worden ist.
9. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei als Verzweigungen enthaltendes Polyglucan ein alpha-amylase resistentes
- 10 Polyglucan eingesetzt wird.
10. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei mehr als ein Verzweigungen enthaltendes Polyglucan eingesetzt wird.
- 15 11. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei die Lösung und das Fällmittel bei einer Temperatur im Bereich von 20 bis 50 °C vermengt werden und das entstehende Gemisch auf eine Temperatur im Bereich von plus 10 °C bis minus 10 °C abgekühlt wird.
- 20 12. Verfahren nach Anspruch 11, wobei das entstehende Gemisch auf eine Temperatur im Bereich von plus 5 °C bis minus 5 °C abgekühlt wird.
13. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei als Fällmittel Wasser oder ein wäßriges Medium eingesetzt wird.
- 25 14. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei als Lösungsmittel Dimethylsulfoxid eingesetzt wird.
15. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei das
- 30 wasserunlösliche lineare Polysaccharid ein lineares Polyglucan ist.
16. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei als

wasserunlösliches lineares Polysaccharid Poly(1,4-alpha-D-glucan) eingesetzt wird.

17. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei als  
5 wasserunlösliches lineares Polysaccharid Poly(1,3-beta-D-glucan) eingesetzt wird.
18. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei das  
wasserunlösliche lineare Polysaccharid ein chemisch modifiziertes  
10 Polysaccharid ist.
19. Verfahren nach Anspruch 18, wobei das wasserunlösliche lineare  
Polysaccharid in mindestens einer der Positionen, die nicht an der Ausbildung  
der Polymerkette beteiligt ist, vorzugsweise in Position 2-, 3- und/oder 6,  
15 verestert und/oder verethert worden ist.
20. Sphärische Mikropartikel mit glatter Oberfläche erhältlich nach einem  
Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 19.
- 20 21. Sphärische Mikropartikel, bestehend ganz oder teilweise aus mindestens  
einem wasserunlöslichen Verzweigungen enthaltenden Polyglucan.
22. Sphärische Mikropartikel nach Anspruch 21, wobei der Verzweigungsgrad des  
Verzweigungen enthaltenden Polyglucans größer Null und maximal 8 % ist.  
25
23. Spärliche Mikropartikel nach einem der Ansprüche 21 bis 22, zusätzlich  
enthaltend mindestens ein wasserunlösliches lineares Polysaccharid.
24. Sphärische Mikropartikel nach einem der Ansprüche 21 bis 23, wobei das  
30 Verzweigungen enthaltende Polyglucan verzweigtes Poly(1,4-alpha-D-glucan)  
ist.

25. Sphärische Mikropartikel nach einem der Ansprüche 21 bis 24, wobei das wasserunlösliche lineare Polysaccharid lineares Poly(1,4-alpha-D-glucan) ist.
26. Verwendung von sphärischen Mikropartikeln nach einem der Ansprüche 20  
5 bis 25 zur Trennung von Stoffgemischen.
27. Verwendung von sphärischen Mikropartikeln nach einem der Ansprüche 20 bis 25 als Füllmittel in Polymeren.
- 10 28. Verwendung von sphärischen Mikropartikeln nach einem der Ansprüche 20 bis 25 in diagnostischen Test.



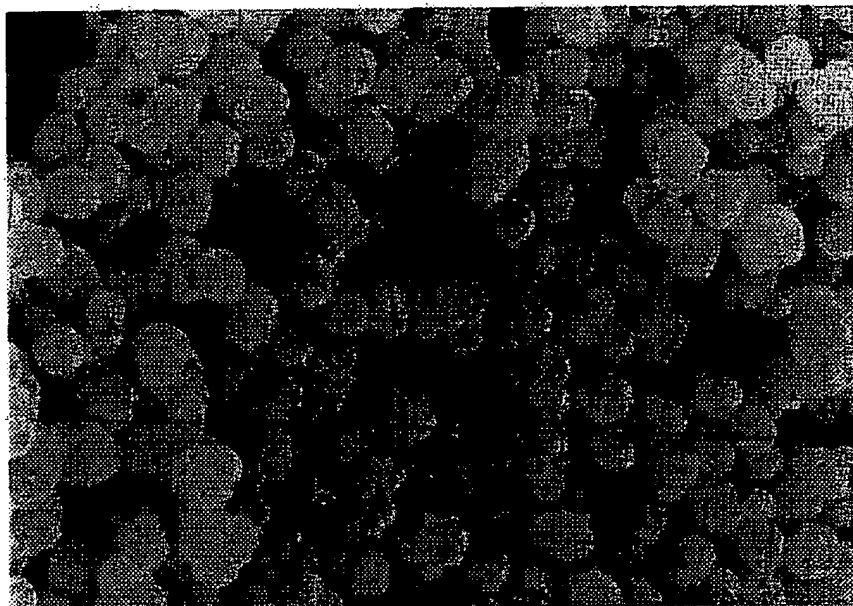
3  $\mu\text{m}$

***Fig. 1***



1  $\mu\text{m}$

***Fig. 2***



3  $\mu\text{m}$

***Fig. 3***



3  $\mu\text{m}$

***Fig. 4***

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

PCT/EP 99/05976

**A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER**  
IPC 7 C08J3/14 C08L3/12

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

**B. FIELDS SEARCHED**

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC 7 C08J C08L C08B

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

**C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT**

Category	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	GB 2 247 242 A (KABUSHIKI KAISHA HAYASHIBARA SEIBUTSU) 26 February 1992 (1992-02-26) page 7	1-28
X	EP 0 528 893 A (A.E.STALEY MANUFACTURING COMPANY) 3 March 1993 (1993-03-03) page 5	1-28
A	EP 0 327 490 A (SCHERING AKTIENGESELLSCHAFT) 9 August 1989 (1989-08-09)	
A	WO 85 02772 A (SCHRÖDER ULF ET AL.) 4 July 1985 (1985-07-04)	

☐ Further documents are listed in the continuation of box C.

☒ Patent family members are listed in annex.

\* Special categories of cited documents :

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier document but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

8 December 1999

Date of mailing of the international search report

21/12/1999

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2  
NL - 2280 HV Rijswijk  
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,  
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Lensen, H

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

PCT/EP 99/05976

Patent document cited in search report		Publication date	Patent family member(s)	Publication date
GB 2247242	A	26-02-1992	JP 2926434 B	28-07-1999
			JP 4085301 A	18-03-1992
EP 528893	A	03-03-1993	DE 4015642 A	21-11-1991
			DE 59100820 D	17-02-1994
			WO 9117922 A	28-11-1991
			ES 2048015 T	01-03-1994
			JP 2659861 B	30-09-1997
			US 5369935 A	06-12-1994
EP 327490	A	09-08-1989	DE 3803971 C	07-09-1989
			DE 3803972 A	10-08-1989
			AT 109663 T	15-08-1994
			AU 635200 B	18-03-1993
			AU 3035189 A	25-08-1989
			CA 1336164 A	04-07-1995
			CN 1035437 A, B	13-09-1989
			WO 8906978 A	10-08-1989
			DE 58908194 D	22-09-1994
			DK 186490 A	23-08-1990
			EP 0398935 A	28-11-1990
			EP 0586875 A	16-03-1994
			ES 2068917 T	01-05-1995
			FI 99086 B	30-06-1997
			IE 66912 B	07-02-1996
			IL 89175 A	21-02-1993
			JP 8208524 A	13-08-1996
			JP 2907911 B	21-06-1999
			JP 3503634 T	15-08-1991
			KR 133132 B	17-04-1998
			NO 301260 B	06-10-1997
			NO 970732 A	03-10-1990
			NZ 227869 A	25-11-1992
			NZ 237900 A	25-11-1992
			PT 89635 A, B	04-10-1989
			US 5425366 A	20-06-1995
WO 8502772	A	04-07-1985	SE 463651 B	07-01-1991
			AT 38777 T	15-12-1988
			DE 3475269 A	29-12-1988
			DK 377085 A, B,	19-08-1985
			EP 0166755 A	08-01-1986
			FI 853207 A, B,	21-08-1985
			HK 134993 A	17-12-1993
			JP 9110727 A	28-04-1997
			JP 7055912 B	14-06-1995
			JP 61500786 T	24-04-1986
			NO 853270 A	19-08-1985
			SE 8307060 A	22-06-1985
			SG 85691 G	14-02-1992
			US 5618514 A	08-04-1997
			US 5670135 A	23-09-1997
			US 5817291 A	06-10-1998

# INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP 99/05976

**A. KLASSIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES**  
IPK 7 C08J3/14 C08L3/12

Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK

## B. RECHERCHIERTE GEBIETE

Recherchierte Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole)

IPK 7 C08J C08L C08B

Recherchierte aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen

Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)

## C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
X	GB 2 247 242 A (KABUSHIKI KAISHA HAYASHIBARA SEIBUTSU) 26. Februar 1992 (1992-02-26) Seite 7	1-28
X	EP 0 528 893 A (A.E.STALEY MANUFACTURING COMPANY) 3. März 1993 (1993-03-03) Seite 5	1-28
A	EP 0 327 490 A (SCHERING AKTIENGESELLSCHAFT) 9. August 1989 (1989-08-09)	
A	WO 85 02772 A (SCHRÖDER ULF ET AL.) 4. Juli 1985 (1985-07-04)	

☐ Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen

☒ Siehe Anhang Patentfamilie

\* Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen :

"A" Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist

"E" älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist

"L" Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)

"O" Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht

"P" Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist

"T" Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist

"X" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden

"Y" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist

"Z" Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

Datum des Abschlusses der internationalen Recherche

8. Dezember 1999

Absendedatum des internationalen Recherchenberichts

21/12/1999

Name und Postanschrift der Internationalen Recherchenbehörde  
Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentlaan 2  
NL - 2280 HV Rijswijk  
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,  
Fax: (+31-70) 340-3016

Bevollmächtigter Bediensteter

Lensen, H



# INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Angaben zu Veröffentlichungen, die zur selben Patentfamilie gehören

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP 99/05976

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument	Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie	Datum der Veröffentlichung
GB 2247242 A	26-02-1992	JP 2926434 B	28-07-1999
		JP 4085301 A	18-03-1992
EP 528893 A	03-03-1993	DE 4015642 A	21-11-1991
		DE 59100820 D	17-02-1994
		WO 9117922 A	28-11-1991
		ES 2048015 T	01-03-1994
		JP 2659861 B	30-09-1997
		US 5369935 A	06-12-1994
EP 327490 A	09-08-1989	DE 3803971 C	07-09-1989
		DE 3803972 A	10-08-1989
		AT 109663 T	15-08-1994
		AU 635200 B	18-03-1993
		AU 3035189 A	25-08-1989
		CA 1336164 A	04-07-1995
		CN 1035437 A, B	13-09-1989
		WO 8906978 A	10-08-1989
		DE 58908194 D	22-09-1994
		DK 186490 A	23-08-1990
		EP 0398935 A	28-11-1990
		EP 0586875 A	16-03-1994
		ES 2068917 T	01-05-1995
		FI 99086 B	30-06-1997
		IE 66912 B	07-02-1996
		IL 89175 A	21-02-1993
		JP 8208524 A	13-08-1996
		JP 2907911 B	21-06-1999
		JP 3503634 T	15-08-1991
		KR 133132 B	17-04-1998
		NO 301260 B	06-10-1997
		NO 970732 A	03-10-1990
		NZ 227869 A	25-11-1992
		NZ 237900 A	25-11-1992
		PT 89635 A, B	04-10-1989
		US 5425366 A	20-06-1995
WO 8502772 A	04-07-1985	SE 463651 B	07-01-1991
		AT 38777 T	15-12-1988
		DE 3475269 A	29-12-1988
		DK 377085 A, B,	19-08-1985
		EP 0166755 A	08-01-1986
		FI 853207 A, B,	21-08-1985
		HK 134993 A	17-12-1993
		JP 9110727 A	28-04-1997
		JP 7055912 B	14-06-1995
		JP 61500786 T	24-04-1986
		NO 853270 A	19-08-1985
		SE 8307060 A	22-06-1985
		SG 85691 G	14-02-1992
		US 5618514 A	08-04-1997
		US 5670135 A	23-09-1997
		US 5817291 A	06-10-1998